

**PEMURNIAN PROTEIN REKOMBINAN FIM-C
SALMONELLA TYPHI DENGAN RESIN Ni-NTA
SEBAGAI BAHAN BAKU KIT DETEKSI PENYAKIT
TIFUS**

Skripsi

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains**





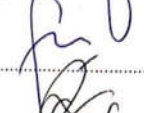
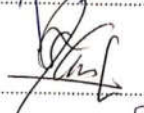
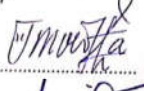

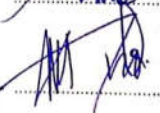
**Tri Setiyoto
3325152952**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

PEMURNIAN PROTEIN REKOMBINAN FIM-C *SALMONELLA TYPHI*
DENGAN RESIN NI-NTA SEBAGAI BAHAN BAKU KIT DETEKSI
PENYAKIT TIFUS

Nama Mahasiswa : TRI SETIYOTO
No. Registrasi : 3325152952
Program Studi : Kimia

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab			
Dekan	: <u>Dr. Adisyahputra, M.Si</u> NIP 19601111 198703 1 001		17/2/2020
Wakil Penanggung Jawab			
Wakil Dekan I	: <u>Dr. Muktiningsih N., M.Si</u> NIP 19640511 198903 2 001		14/2/2020
Ketua	: <u>Dr. Fera Kurniadewi, M.Si</u> NIP 19761231 200112 2 002		11/2/2020
Sekretaris	: <u>Dr. Setia Budi, M.Si</u> NIP 19790621 200501 1 001		10/2/2020
Anggota Penguji	: <u>Dr. Moersilah, M.Si</u> NIP 19580523 199703 2 001		10/2/2020
Pembimbing 1	: <u>Dr. Muktiningsih, M.Si</u> NIP 19640511 198903 2 001		11/2/2020
Pembimbing 2	: <u>Dr. Dudi Hardianto, Apt</u> NIP 19721124 199903 1 005		11/2/2020

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 5 Februari 2020

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **"Pemurnian Protein Rekombinan Fim-C *Salmonella typhi* dengan Resin Ni-NTA sebagai Bahan Baku Kit Deteksi Penyakit Tifus"** yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Kimia Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulis lain yang telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 14 Febuari 2020



Tri Setiyoto



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220
Telepon/Faksimili: 021-4894221
Laman: lib.unj.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : TRI SETIYOTO
NIM : 2325152952
Fakultas/Prodi : FMIPA / KIMIA
Alamat email : tri.setiyoto.unj@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

☒ Skripsi ☐ Tesis ☐ Disertasi ☐ Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Pemurnian Protein Rekombinan Fim-C *Salmonella Typhi*
dengan Resm Ni-NTA sebagai Bahan Baku kit Deteksi
Penyakit Tifus

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 19 Februari 2020

Penulis

(TRI SETIYOTO)
nama dan tanda tangan

ABSTRAK

TRI SETIYOTO. Pemurnian Protein Rekombinan Fim-C *Salmonella typhi* dengan Resin Ni-NTA sebagai Bahan Baku Kit Deteksi Penyakit Tifus. Dibawah bimbingan MUKTININGSIH NURJAYADI, DUDI HARDIANTO.

Penyakit tifus adalah penyakit endemik yang berada di daerah Asia, salah satunya adalah Indonesia. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO), diinformasikan bahwa terdapat 81% per 100.000 orang terjangkit tifus di Indonesia. Penyakit tifus ini berasal dari bakteri *Salmonella typhi* yang menyebar akibat lingkungan dan sanitasi yang kotor. Dalam penanganannya, terdapat serangkaian uji untuk memastikan seseorang terjangkit tifus atau tidak. Hasil penelitian Tim Salmonella sebelumnya, telah dikembangkan sebuah prototipe kit deteksi baru yang menggunakan antibodi anti-Fim-C *S. typhi* sebagai antibodi penangkapnya. Selain itu, protein Fim-C *S. typhi* yang menjadi bahan utamanya telah dimurnikan menggunakan metode IMAC. Metode IMAC digunakan karena dapat mengikat protein Fim-C *S. typhi* dengan logam Ni^{2+} berdasarkan afinitas sehingga dapat terpisah dari protein lainnya. Dalam metode IMAC terdapat tiga proses, yaitu *binding*, *washing*, dan *elution*. Ketiga proses tersebut menentukan banyaknya protein Fim-C yang murni sehingga diperlukan optimasi untuk mendapatkan *yield* terbesar. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan untuk mendapatkan data yang komprehensif. Pada penelitian sebelumnya, dilakukan variasi pengulangan sebanyak 2, 4, dan 6 kali pada proses *binding* dan *washing*. Hasil *yield* yang didapatkan secara berturut-turut adalah 35,37, 39,11, dan 40,49%. Berbeda dengan sebelumnya, penelitian ini menggunakan variasi 3, 5, dan 7 kali pada proses *binding* dan *washing* yang hasilnya secara berturut-turut adalah 37,84, 39,44, dan 38,21%. Berdasarkan data tersebut, nilai *yield* terbesar adalah pada 6× karena pada variasi 7× mengalami penurunan. Oleh karena itu, variasi 6× adalah variasi pengulangan terbaik untuk mendapatkan nilai *yield* terbesar sehingga dapat dijadikan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

Kata kunci: *Salmonella typhi*, Protein Rekombinan Fim-C *S. typhi*, IMAC, Ni-NTA

ABSTRACT

TRI SETIYOTO. Purification of *Salmonella typhi* Fim-C Recombinant Protein with Ni-NTA Resin as Raw Material for Typhus Detection Kit. Under the supervised by MURTININGSIH NURJAYADI, DUDI HARDIANTO.

Typhus is an endemic disease in Asia, one of which is Indonesia. Based on data from the World Health Organization (WHO), it was informed that there were 81% per 100,000 people infected with typhus in Indonesia. This typhus disease comes from *Salmonella typhi* bacteria which is spread due to the environment and dirty sanitation. In handling, there are a series of tests to ensure someone is infected with typhus or not. The results of the Salmonella Team's previous research have developed a new prototype detection kit that uses the anti-Fim-C *S. typhi* antibody as its catching antibody. In addition, the *S. typhi* Fim-C protein which is the main ingredient has been purified using the IMAC method. The IMAC method is used because it can bind the *S. typhi* Fim-C protein with Ni^{2+} metal based on affinity so that it can separate from other proteins. In the IMAC method there are three processes, namely binding, washing, and elution. These three processes determine the amount of pure Fim-C protein so optimization is needed to get the largest yield. This research is an advanced research to get comprehensive data. In previous studies, the variation of repetition was done 2, 4 and 6 times in the binding and washing process. Yields obtained respectively were 35.37, 39.11, and 40.49%. Different from before, this study used variations of 3, 5, and 7 times in the binding and washing process with 37.84, 39.44, and 38.21% respectively. Based on these data, the largest yield is 6× because the 7× variation has decreased. Therefore, the 6× variation is the best repetition variation to get the largest yield value so that it can be used as a provision for further research.

Keywords: *Salmonella typhi*, Protein Recombinant Fim-C *S. typhi*, IMAC, Ni-NTA

KATA PENGANTAR

Sebuah kalimat yang tak pernah kita lupakan, yaitu puji dan syukur kita ke hadirat Allah SWT atas karunia kesehatan dan waktu luang yang begitu besar sehingga penulis dapat menggunakan kesempatan tersebut untuk menyelesaikan penelitian dengan judul “Pemurnian Protein Rekombinan Fim-C *Salmonella typhi* dengan Resin Ni-NTA sebagai Bahan Baku Kit Deteksi Penyakit Tifus”. Selain itu juga, shalawat serta salam, selalu kita panjatkan kepada Nabi Muhammad SAW, semoga kita sebagai umatnya bisa selalu menjadikan beliau sebagai panutan dalam menjalankan aktivitas kita sehari-hari.

Dalam penulisan Skripsi ini, penulis berterima kasih kepada Ibu Dr. Muktiningsih, M.Si. dan Bapak Dr. Dudi Hardianto, Apt. yang telah memberikan semangat, motivasi, dan ilmu yang begitu luas dalam proses pembuatan skripsi ini. Selain itu, Ibu Dr. Fera Kurniadewi, M. Si. selaku Koordinator Prodi Kimia dalam membantu menyelesaikan skripsi. Kedua orang tua dan teman-teman angkatan 2015 terkhusus Team Salmonella yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan proposal ini.

Penulis telah berusaha memaksimalkan dalam pengerjaan skripsi ini yang dimana sebagai laporan hasil penelitian yang telah dilakukan. Namun, skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak.

Jakarta, 28 Januari 2020

Tri Setiyoto

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian.....	2
BAB II KAJIAN PUSTAKA	3
A. <i>Salmonella typhi</i>	3
B. Protein Fim-C	6
C. Purifikasi Protein	7
D. SDS-PAGE.....	9
E. ImageJ	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	14
A. Tempat dan Waktu Penelitian	14
B. Metode Penelitian	14
1. Alat dan Bahan	14
2. Prosedur Penelitian	15
C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data.....	17
BAB IV PEMBAHASAN.....	18
A. Purifikasi dan Karakterisasi Protein Rekombinan Fim-C <i>S.typhi</i>	18
B. Pengukuran Konsentrasi Protein Rekombinan Fim-C <i>S.typhi</i>	22
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	26
A. Kesimpulan	26
B. Saran	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27

LAMPIRAN	30
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Pohon Taksonomi <i>Salmonella</i>	3
Gambar 2. <i>Salmonella typhi</i>	4
Gambar 3. Proses Patogenesis <i>Salmonella typhi</i>	5
Gambar 4. Fimbriae pada <i>Salmonella typhi</i>	6
Gambar 5. Gambaran Protein yang Memiliki His-tag	8
Gambar 6. Gambaran Proses Pemurnian Protein	9
Gambar 7. Polimerisasi Akrilamida.....	10
Gambar 8. Proses Elektroforesis dengan SDS-PAGE	11
Gambar 9. <i>Software</i> ImageJ	12
Gambar 10. Struktur Ikatan antara Ni^{2+} dengan Protein Target.....	19
Gambar 11. Hasil Karakterisasi Protein Fim-C <i>S. typhi</i> murni pada Variasi Pengulangan 3x	20
Gambar 12. Hasil Karakterisasi Protein Fim-C <i>S. typhi</i> murni pada Variasi Pengulangan 5x	20
Gambar 13. Hasil Karakterisasi Protein Fim-C <i>S. typhi</i> murni pada Variasi Pengulangan 7x	21
Gambar 14. Pemurnian pada Elusi ke-2 tiap Variasi.....	21
Gambar 15. Kurva Standar.....	23
Gambar 16. Grafik Perbandingan Yield	25

DAFTAR TABEL

Tabel 1. <i>Resolving Gel</i>	16
Tabel 2. <i>Stacking Gel</i>	16
Tabel 3. Densitas Relatif Pita Protein Fim-C <i>S. typhi</i>	22
Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Standar	23
Tabel 5. Hasil Pengukuran Absorbansi dari Tiap Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	24
Tabel 6. Hasil Perhitungan Konsentrasi dari Setiap Sampel (μg)	24
Tabel 7. Hasil Perhitungan Persen <i>Yield</i> dari Setiap Variasi	24



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja Prosedur Penelitian	30
Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi Protein Fim-C <i>S. typhi</i> Setelah Pemurnian	35
Lampiran 3. Perhitungan <i>Yield</i> Protein Fim-C <i>S. typhi</i> Setelah Pemurnian dari Setiap Variasi	37
Lampiran 4. Perhitungan Densitas Relatif	39

